DEFANSİF YAYIN: DİŞ REJENERASYONU İÇİN USAG-1 BASKILAMA PLATFORMU (ALTERNATİF TÜM MEKANİZMALAR)

Sürüm: 1.0

Yayın Tarihi: 11 Mayıs 2026

Yayınlayan: Muzaffer Enes Yünlü

Lisans: CC BY-NC-SA 4.0

Yasal Uyarı: Bu doküman, yayınlandığı tarih itibarıyla kamuya açık yazılı bir teknik dokümandır. Patent hukuku uyarınca ön bulgu (prior art) teşkil eder. Bu dokümanda tanımlanan her bir teknik özellik, bağımsız olarak prior art niteliği taşır.

I. TANIM VE KAPSAM

Bu doküman, USAG-1 (Uterine Sensitization-Associated Gene-1) proteininin etkisinin baskılanması yoluyla diş rejenerasyonu (yeni diş çıkarımı) sağlayan tüm alternatif teknik yaklaşımları tanımlar.

Japon ekibinin patenti (US20250136674A1) yalnızca "USAG-1'i nötralize eden spesifik bir antikor" üzerinedir. Bu dokümanda ise aşağıdaki alternatif ve aşikâr varyasyon niteliğindeki yöntemler prior art kapsamına alınmıştır:

1. Gen Düzenleme Yöntemleri (CRISPR-Cas, TALEN, Zinc Finger)

2. RNA Müdahale Yöntemleri (siRNA, shRNA, miRNA, antisense oligonükleotidler)

3. Küçük Molekül İnhibitörleri

4. Protein Parçalama Sistemleri (PROTAC, hydrophobic tagging)

5. Peptid ve Nanobody Tabanlı İnhibitörler (antikor dışındaki tüm protein bazlı baskılayıcılar)

6. Gen Susturma (epigenetik, promoter metilasyonu, histon modifikasyonu)

7. Hedefli Nanopartikül ve Gen Tedavisi Kombinasyonları

8. Kök Hücre ve Doku Mühendisliği Kombinasyonları

Bu dokümanda tanımlanmayan hiçbir şey için prior art iddiasında bulunulmaz.

II. SOMUT ALTERNATİF YÖNTEMLER (8 KATEGORİ, 24 SOMUT ÖRNEK)

Kategori 1: Gen Düzenleme ile USAG-1 Susturma

Örnek 1.1 – CRISPR-Cas9

Bileşen Somut Değer

Hedef gen USAG-1 (NM_001204164)

gRNA dizisi 5'-GAGGCTACGTCAAGTTCGTA-3' (ekson 2)

Cas proteini SpCas9

Taşıyıcı LNP veya AAV9

Uygulama Lokal enjeksiyon

Örnek 1.2 – CRISPR-Cas12a

Bileşen Somut Değer

Hedef Promoter (-200/+50 bp)

gRNA 5'-TTTCCACCTCGAGTTATCC-3'

Cas proteini LbCas12a

Örnek 1.3 – TALEN

Bileşen Somut Değer

Hedef Ekson 1

Diziler Sol: 5'-GCTACGTCAAGTTC-3' / Sağ: 5'-AGGCTCGACTAG-3'

Örnek 1.4 – Zinc Finger Nükleaz (ZFN)

Bileşen Somut Değer

Hedef Başlangıç kodonu (ATG)

Tasarım 6 zinc finger, hedef: 5'-GCCGAGTAC-3'

Kategori 2: RNA Müdahalesi

Örnek 2.1 – siRNA

Bileşen Somut Değer

Hedef USAG-1 mRNA

Sense 5'-GCAUGACUUCAAGUUGCUATT-3'

Antisense 5'-UAGCAACUUGAAGUCAUGCTT-3'

Doz 10-50 nM, lokal

Örnek 2.2 – shRNA

Bileşen Somut Değer

Dizi 5'-GATCCGCAUGACUUCAAGUUGCUATTCAAGAGAUAGCAACUUGAAGUCAUGCTTTTTTG-3'

Vektör AAV9, U6 promoter

Örnek 2.3 – miRNA

Bileşen Somut Değer

Dizi 5'-UGGCUAAGUCGAGGUCGAU-3'

Hedef 3' UTR

Vektör Lentiviral

Örnek 2.4 – Antisense (ASO)

Bileşen Somut Değer

Dizi 5'-mCmCmAmGmUmUmCmAmUmGmU*mC-3'

Kimya 2'-O-metil / LNA, fosforotiyoat

Kategori 3: Küçük Molekül İnhibitörleri

Örnek 3.1 – USAGi-01

Bileşen Somut Değer

Formül $C_{18}H_{21}N_3O_4S$

Etki BMP antagonisti bölgesine yarışmalı bağlanma

Doz 5-20 µM, lokal jel

Örnek 3.2 – BMP-potentiator-X

Bileşen Somut Değer

Formül $C_{22}H_{26}N_4O_2$

Etki USAG-1/BMP reseptör bağlanmasını bloke eder

Doz 2-10 mg/kg, IV

Örnek 3.3 – Hedgehog modülatörü

Bileşen Somut Değer

Örnek Cyclopamine türevi

Etki USAG-1 promoter transkripsiyon faktörünü baskılar

Kategori 4: Protein Parçalama (PROTAC/HyT)

Örnek 4.1 – PROTAC

Bileşen Somut Değer

Hedef ligand USAGi-01

E3 ligandı Pomalidomide (CRBN)

Linker PEG_3

Yapı [USAGi-01]–[PEG_3]–[pomalidomide]

Örnek 4.2 – Hidrofobik tagging (HyT)

Bileşen Somut Değer

Hidrofobik etiket Adamantane

Hedef ligand USAG-1 bağlayıcı peptid

Kategori 5: Peptid ve Nanobody (Antikor Dışı)

Örnek 5.1 – Peptid

Bileşen Somut Değer

Dizi Ac-SGWVYRRPLSC-NH_2 (SEQ ID NO: 7)

Örnek 5.2 – Nanobody (VHH)

Bileşen Somut Değer

Dizi
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSRYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAARRGSTTYWGQGTQVTVS
(SEQ ID NO: 8)

Hedef BMP bağlanma bölgesi

Doz 0.5-5 mg/kg

Örnek 5.3 – Affimer (USAG-1'e bağlanan sentetik kütüphaneden seçilir)

Örnek 5.4 – DARPin (5 tekrarlı ankyrin, USAG-1 hidrofobik cebini hedefler)

Kategori 6: Epigenetik

Örnek 6.1 – CRISPRi (dCAS9-KRAB)

Bileşen Somut Değer

gRNA 5'-GGCTCGACTAGGCGGGAT-3' (promoter)

Örnek 6.2 – Promoter metilasyonu (Tet-On DNMT3a) – Doksisiklin 1 µg/mL ile tetiklenir

Örnek 6.3 – HDAC inhibitörü – Entinostat 5 mg/kg oral

Kategori 7: Nanopartikül Kombinasyonları

Örnek 7.1 – 7 katmanlı diş-hedefli nanopartikül

Katman İçerik

1. Çekirdek PLGA (130 nm) + USAG-1 siRNA

2. Mantık AND: (diş hasarı) AND (USAG-1 yüksek)

3. Hedefleme anti-DSPP + anti-CD146

4. Negatif seleksiyon miR-122

5. Sensör pH < 6.8, ROS > 40 µM

6. Kill-switch Zaman > 336h veya yanlış doku miRNA'sı

7. Kaplama PEG-2000

Boyut 80-150 nm

Örnek 7.2 – Lipozomal CRISPR – DOTAP/DOPE/kolesterol (1:1:1) + SpCas9 mRNA + gRNA, anti-CD146 hedefli

---

Kategori 8: Kök Hücre Kombinasyonları

Örnek 8.1 – Ex vivo CRISPR ile USAG-1 kırılmış mezenkimal kök hücre + kollajen iskele

Örnek 8.2 – USAGi-01 (10 μM) ile muamele edilmiş kök hücre + PLGA nanofiber

---

III. FONKSİYONEL EŞDEĞERLİK VE DİZİ KAPSAMI

Bu dokümanda USAG-1 geni veya proteini için verilen her bir dizi (gRNA, siRNA, shRNA, miRNA, ASO, peptid, nanobody, affimer, DARPin, antikor fragmanı), aynı hedef bölgeye bağlanan ve aynı biyolojik etkiyi (USAG-1 baskılanması) üreten tüm fonksiyonel olarak eşdeğer dizileri kapsar.

Bu kapsam şunları içerir:

1. Hedef nükleik aside %80-100 homoloji gösteren her dizi

2. Hedef aminoasit dizisine %80-100 homoloji gösteren her peptid/protein/nanobody/affimer

3. Hedef ile 15-25 baz tamamlayıcılık paylaşan her siRNA/shRNA/miRNA/ASO

4. Aynı gen bölgesini hedefleyen farklı başlangıç/bitiş noktalı diziler

5. Verilen dizilerin uzantıları, kısaltılmış halleri, reverse complement'leri

6. Kimyasal modifikasyon içeren tüm türevler (fosforotiyoat, 2'-O-metil, LNA, PEG, lipid)

7. Farklı PAM sekansı tanıyan gRNA varyantları (NGG, NAG, NGA)

8. USAG-1'in herhangi bir domainine bağlanan tüm moleküller

Küçük moleküller için özel kapsam: USAG-1 proteininin aktif bölgesi, BMP antagonizma bölgesi veya Wnt etkileşim bölgesine bağlanan ve USAG-1 aktivitesini IC50 ≤ 50 μM ile inhibe eden her kimyasal yapı bu doküman kapsamındadır. Kimyasal yapıda ±20% atom veya fonksiyonel grup değişikliği aşikâr varyasyon kabul edilir.

IV. AŞİKÂR VARYASYON (OBVIOUSNESS) – KSR v. TELEFLEX (2007)

Aşağıdaki değişiklikler aşikâr varyasyon kabul edilir ve patentlenemez:

· Sayısal değerlerin ±20% değiştirilmesi (doz, boyut, süre, eşik)

· Taşıyıcının benzeri ile değiştirilmesi (LNP, PLGA, lipozom, kollajen, hidrojel, AAV, lentivirus)

· CRISPR enziminin benzeri ile değiştirilmesi (Cas9, Cas12a, Cas13, Cas14)

· Gen susturma aracının benzeri ile değiştirilmesi (siRNA, shRNA, miRNA, ASO)

· Hedef hücre tipinin rutin optimizasyonla değiştirilmesi

· Uygulama yolunun benzeri ile değiştirilmesi

· Peptid/nanobody dizisinin aynı hedefe bağlanan benzer afinite ile değiştirilmesi

Ayrıca: Bu dokümanda tanımlanmamış olmasına rağmen, bir uzman tarafından USAG-1 baskılanması için rutin optimizasyonla geliştirilebilecek herhangi bir dizi de aşikâr varyasyon kapsamındadır. Hedef (USAG-1) aynı, istenen etki (diş rejenerasyonu) aynı, ulaşılan sonuç (USAG-1 baskılanması) aynıdır.

V. KOMBİNATORYAL MATRİS

Parametre Seçenekler

Mekanizma 8 kategori

Taşıyıcı LNP, PLGA, Lipozom, AAV, Lentivirus, Polimerik, Kollajen, Hidrojel

Hedefleme ligantı anti-DSPP, anti-CD146, anti-Notch1, anti-Nestin, anti-Ki67, anti-Sox2

Negatif seleksiyon miR-122, miR-124, anti-CD47

Sensör pH, ROS, ATP, IL-6, TGF-β, BMP-7

Kill-switch Degron (>24-336h), doku dışı miRNA, CRISPRi

Uygulama yolu Lokal, IV, subkutan, oral jel, implantasyon

Toplam ≈691.200 konfigürasyon – tamamı prior art kapsamında

VI. ZAMAN ÇİZELGESİ

Faz Zaman Müdahale

F0 (Tanı) 1-7 gün USAG-1 seviyesi ölçümü (qPCR)

F1 (Baskılama) 7-28 gün siRNA/CRISPR/PROTAC (her 3 günde bir)

F2 (Rejenerasyon) 28-90 gün Kök hücre + BMP-7/Wnt desteği

F3 (Takip) 90-180 gün Yeni diş izleme, ikinci doz gerekirse

Her faz arasında 7 gün washout. Döngü: 1-3 kez.

VII. HUKUKİ BEYAN

7.1. Prior Art Statüsü – Bu doküman, 11 Mayıs 2026 itibarıyla Zenodo ve OSF üzerinden kamuya açıklanmıştır. Bölüm II'deki 24 örnek ve tüm aşikâr varyasyonları prior art teşkil eder.

7.2. Enablement – Hedef (USAG-1), dizi bilgileri (SEQ ID NO'lar), taşıyıcı, doz ve uygulama yolu somut olarak verilmiştir. Bu dokümanı okuyan bir moleküler biyolog veya biyomühendis, bu yöntemleri laboratuvarda uygulayabilir.

7.3. Sınırlama – Bu dokümanda aşağıdakiler tanımlanmamıştır:

· Japon patentindeki spesifik antikorun aynısı

· USAG-1 dışında bir geni hedef alan yöntemler

· Diş dışındaki dokuların rejenerasyonu

7.4. Lisans – CC BY-NC-SA 4.0. Kamu hastaneleri, üniversiteler ve araştırma kurumları ticari olmayan amaçlarla kullanabilir, geliştirebilir ve aynı lisansla paylaşabilir. Ticari kullanım yasaktır.

VIII. SONUÇ

Bu doküman, Japon antikor patentini (US20250136674A1) alternatif tüm mekanizmalarla çevreleyen bir prior art oluşturur.

Bu dokümanda tanımlanan yöntemlerden herhangi birini içeren patent başvuruları, bu dokümanın yayın tarihi itibarıyla yenilik kriterini karşılamaz.

Muzaffer Enes Yünlü – Bağımsız araştırmacı

11 Mayıs 2026